

ラット正常心筋及び梗塞心筋におけるジアシルグリセロールキナーゼアイソザイムの発現の検討: カプトプリル治療の効果

著者	武田 守彦
号	1737
発行年	2001
URL	http://hdl.handle.net/10097/22123

論文内容要旨

研究目的

プロテインキナーゼC (PKC) は、脂質性セカンドメッセンジャーであるジアシルグリセロール (DG) により活性化され、心肥大や梗塞後心室リモデリングの過程で神経体液性因子による情報伝達に重要な役割を担う。ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) は DG をリン酸化しフォスファチジン酸に変換する酵素であり、PKC の活性調節因子であると考えられている。ラットでは5種の DGK アイソザイム (α , β , γ , ε , ζ) がクローニングされ、脳内遺伝子発現の多様性が報告されているが心臓での検討はない。

本研究の目的は、イノシトールリン脂質代謝回転を構成する重要な酵素である DGK の各アイソザイムのラット正常心筋及び梗塞心筋における発現を検討することである。

研究方法

ノーザンブロット法にてラット正常心筋に発現する DGK アイソザイムを同定した。また、*in situ* ハイブリダイゼーション法および免疫染色法にて心筋梗塞モデルにおける各アイソザイムの発現局在および経時的变化を検討した。さらに、未治療群及びアンジオテンシン変換酵素阻害薬であるカプトプリル治療群にて reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を用いて心筋梗塞後の各アイソザイムの経時的発現を定量した。

研究結果

正常心筋では DGK α , ε , ζ の3種のアイソザイムの発現が検出された。正常心筋、梗塞心筋ともに DGK α の発現は非常に少ないと思われた。DGK ε は非梗塞巣に比し、梗塞巣及び境界領域で発現が低下していた。DGK ζ は梗塞後3日、7日では壊死心筋周囲及び境界領域で非梗塞巣に比べより強い発現がみられ、21日後においても梗塞巣中心部に帯状に発現が残存した。DGK ζ の発現増強部位には主に顆粒球及びマクロファージが観察された。21日間のカプトプリル投与により、非梗塞巣の DGK ε の発現低下は抑制され、シャム手術群と同等の発現レベルに保たれた。

結論

ラット心室筋において、3種の DGK アイソザイムの発現が示された。各アイソザイムは心筋梗塞後異なる発現パターンを示し、梗塞後心室リモデリングにおいて特有の役割を果たしている

可能性が示唆された。また、カプトプリルによる治療効果の発現に DGK の発現レベルが関与している可能性が示唆された。

研究の意義・独創的な点

本研究は、心臓に発現する DGK アイソザイムを同定し、心筋梗塞モデルにおいてそれらの発現局在と経時的変化を初めて検討した。その結果 2 つの DGK アイソザイムが心肥大や心室リモデリングに関与する細胞内情報伝達系の一端を担う可能性があることを示した。近年 PKC β の特異的阻害剤が心肥大を退縮させることが動物実験レベルで証明されており、PKC の調節因子である DGK も将来治療標的となり得る可能性が考えられる。本研究はその端緒を開いたという点で大きな意義を持つと考える。

審 査 結 果 の 要 旨

プロテインキナーゼ C (PKC) は、脂質性セカンドメッセンジャーであるジアシルグリセロール (DG) により活性化され、心肥大や梗塞後心室リモデリングの過程で神経体液性因子による情報伝達に重要な役割を担うことが知られている。ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) は DG をリン酸化しフォスファチジン酸に変換する酵素であり、PKC の活性調節因子であると考えられている。ラットでは 5 種の DGK アイソザイムがクローニングされ、脳内遺伝子発現の多様性が報告されているが心臓での検討はない。本研究は、イノシトールリン脂質代謝回転を構成する酵素である DGK の各アイソザイムのラット正常心筋及び梗塞心筋における発現を検討したものであり、今までに報告は全くない。ノーザンブロット法にてラット正常心筋に発現する DGK アイソザイムを同定し、*in situ* ハイブリダイゼーション法および免疫染色法にて心筋梗塞モデルにおける各アイソザイムの発現局在および経時的变化を検討している。さらに、未治療群及びアンジオテンシン変換酵素阻害薬であるカプトプリル治療群にて reverse-transcription polymerase chain reaction 法を用いて心筋梗塞後の各アイソザイムの経時的発現を定量している。いずれも分子生物学的に確立された手法であり問題はない。その結果、正常心筋では DGK α , ϵ , ζ の 3 種のアイソザイムの発現を検出した。DGK ϵ は非梗塞巣に比し、梗塞巣及び境界領域で発現が低下していた。DGK ζ は梗塞後 3 日、7 日では壊死心筋周囲及び境界領域で非梗塞巣に比べより強い発現がみられ、21 日後においても梗塞巣中心部に発現が残存した。DGK ζ の発現増強部位には主に顆粒球及びマクロファージが観察された。21 日間のカプトプリル投与により、非梗塞巣の DGK ϵ の発現低下は有意に抑制され、シャム手術群と同等の発現レベルに保たれた。以上の結果より、本申請者は DGK ϵ および DGK ζ が心室リモデリングや心肥大に関与する細胞内情報伝達系の一端を担う可能性があると主張している。DGK の各アイソザイムの正常心筋および梗塞心筋における発現、治療による発現レベルの変動については以前に全く報告がなく、新しい知見といえる。近年 PKC β の特異的阻害剤が心肥大を退縮させることが動物実験レベルで証明されており、PKC の調節因子である DGK も将来治療標的となり得る可能性が考えられる。本研究はその端緒を開いたという点で大きな意義を持つと考え、学位論文に十分に値するものとする。